



מחיכוש סמנים גנטיים ועד סלקציה גנומית בבקר לחלב: מחלום גנטי למציאות

**לפני חצי יובל, סטודנטים במעבדה
שלנו לגנטיקה, חיפשו סמנים גנטיים
בבקר כדי לייצר תשתית מדעית של
מפת סמנים, שעשויה לתת תחזית
ליכולת הגנטית של פרים ופרות –
חלום גנטי אז ומציאות היום.
ברשימה הזו נסקור את שלבי המחקר
ואבני הדרך שהובילו למהפכה
הגנומית של ימינו אלה •**



מיכה רון¹, אפרים עזרא²
ויהודה ולר¹

מהו סמן גנטי ?

זהו אתר פולימורפי (בעל צורות חליפיות) בגנום, המתפצל בתורשה מנדלית (הצאצא יורש עותק מהאב ועותק מהאם), וניתן למעקב בהורים ובצאצאים. הסמן מאפשר לעקוב אחר האזור הגנומי המסוים (מיקום ב-דנ"א) ואם הוא נמצא בתאחיזה פיסית לגנים חשובים אז מתאפשר לעקוב גם אחריהם.

סמן גנטי מסוג מיקרוסטליט

הסמנים השכיחים בשנות ה-90 היו מסוג מיקרוסטליטים כלומר אתרים בגנום המכילים צברים של צמדי בסיסים דוגמת TG המופיעים בזה אחר זה TG (n). המאפיין של צברים אלו הוא שיעור מוטציות יחסית גבוה המוסיף או מפחית צמד TG (n+1) וכך נוצר אתר בגנום בעל מספר רב (עשרות) של תצורות חליפיות (אללים) באוכלוסיה, כנראה בגלל טעויות של אנזים ההכפלה של דנ"א DNA Polymerase. לכל פרט שני עותקים של האזור הגנומי הנמצאים על כרומוזומים הומולוגיים ולכן הוא יכול להיות הומוזיגוט (שני עותקים זהים בעלי אותו מספר חזרות TG), או הטרוזיגוט (שני עותקים שונים בעלי מספר שונה של חזרות TG).

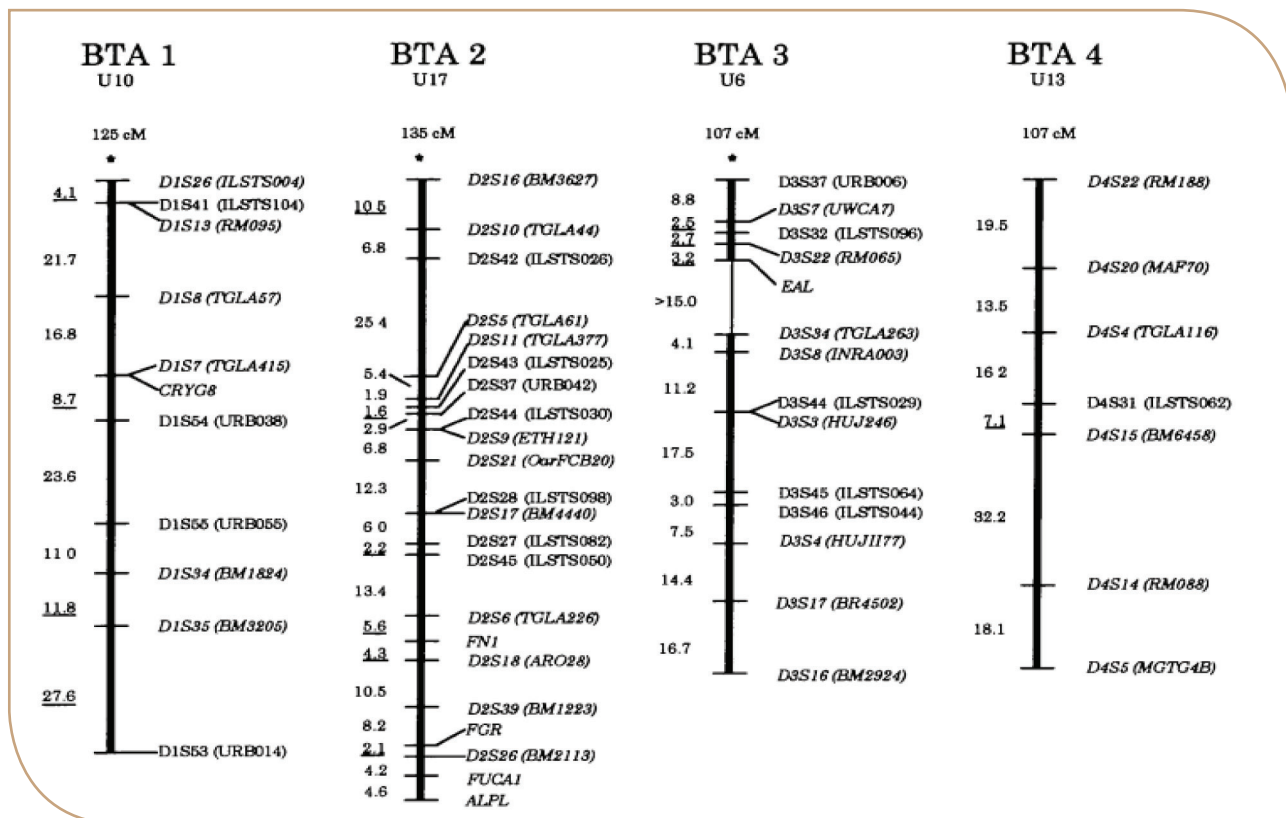
מפת תאחיזה של סמנים גנטיים

לאחר איתור מאות ואלפי סמני דנ"א באופן אקראי בגנום יש חשיבות לסדר אותם בקבוצות תאחיזה (כרומוזומים) משתי סיבות עיקריות: 1. לצורך בחירה חסכונית של סמנים על פני כל הגנום לחיפוש אזורי תאחיזה לתכונות כלכליות, ו-2. לצורך בחירה של סמנים גנטיים צפופים למיפוי עדין של אזור גנומי מסוים שהראה קיום גן בעל ערך כלכלי.

בגיל צעיר של כ-6
חודשים נאספות
דוגמאות של כ-300
עגלים, צאצאים
לפרות עתודות
ופרים מצטיינים
מהארץ והעולם,
ונשלחות לקביעת
גנוטיפ לכ-54 אלף
סמנים גנטיים

1. המחלקה לבקר וגנטיקה, מנהל המחקר החקלאי
2. התאחדות מגדלי בקר





איור 1: מפת תאחיזה של סמנים גנטיים בבקר.

הגנטיים. לביצוע סריקת גנום נדרש מתווה משפחתי של בתי-אב או בתי-סב. ההשערה היא שאם סמן גנטי הוא הטרוזיגוט באב מסוים Mm, והוא אחוז לגן כמותי במצב הטרוזיגוט המשפיע על ייצור חלב Aa, הרי אם נבדוק מספר רב של בנות לסמן הגנטי ונחלק אותן לשתי קבוצות הנבדלות

איתור גנים כמותיים בבקר
 רב התכונות בעלות ערך כלכלי בחיות המשק הן תכונות כמותיות המושפעות על ידי מספר רב של גנים והשפעות סביבה. פיתוח סמנים גנטיים בבקר היווה תשתית לסריקת גנום לצורך איתור גנים כמותיים הנמצאים בתאחיזה לסמנים

חג שמח

כשהמרבץ יבש:

- ◆ העטינים נקיים והפרות נקיות
- ◆ פחות תאים סומטיים בחלב
- ◆ פחות דלקות עטין
- ◆ פחות זבל לפינוי

נפיו אינרליז בצ"ח

לשירותכם תמיד, חנה 052-4379582, טל. 08-6234276 נייד: 053-7790381 פקס. 08-6234277

פאצלי שמו

הפטרון האידיאלי

לפא



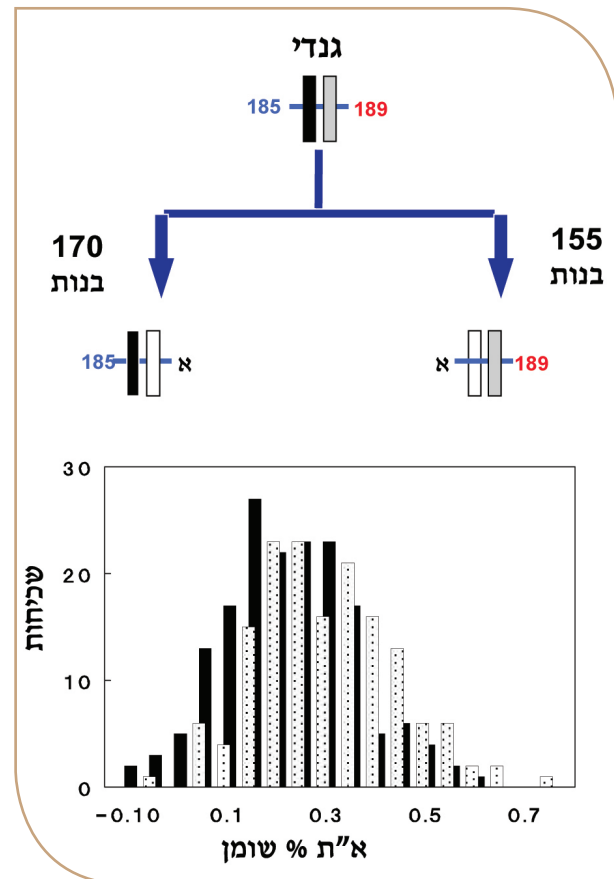
לבנות נושאות אלל 189 באומדן תורשה ל-% שומן. בהנחה שתורמת האימהות אקראית ניתן לייחס את ההפרש המובהק לגן כמותי הנמצא בצמוד לסמן הגנטי בפר גנדי ומתפצל איתו.

עד היום נמצאו רק שני גנים כמותיים המשפיעים על תכונות ייצור בבקר: הגן הראשון, Dgat1 אותר ב-2002 בכרומוזום 14 והשפעתו היא כ-0.2% ריכוז שומן בחלב. הגן הכמותי השני, ABCG2 אותר ב-2005 על כרומוזום 6 אשר מוטציה (תשנית) בו גורמת לשינוי של 0.2% ריכוז חלבון בחלב. הגן מתבטא בבלוטת החלב של עכברות במהלך התחלובה בלבד. שכיות האלל החיובי בגן ABCG2 לייצור חלב ומרכיביו באוכלוסיית הבקר בארץ עלה כתוצאה של הסלקציה בספר העדר מ-0.6 ל-0.9. המשמעות היא שהפוטנציאל של הגן הזה לטיפול כבד מוצה ברובו על ידי הסלקציה הרגילה באוכלוסייה.

מעניין לציין שבעשור שחלף מאיתור הגנים האלו לא אותר גן כמותי נוסף למרות המחקר הנמרץ והכמות הבלתי מוגבלת של סמנים גנטיים. לפיכך, ניתן להסיק שרב הגנים הם בעלי השפעה קטנה המקשה על זיהויים, ושני הגנים בעלי ההשפעה הגבוהה יחסית כבר אותרו.

שילוב סמנים גנטיים בניהול וטיפול עדר הבקר

סמנים גנטיים מיקרוסטילטים שימשו ליישומים שונים ברמת הטיפול של האוכלוסייה וניהול המשק הבודד. היישום העיקרי היה בדיקת אבהות לפרים ועתודות על ידי קבוצה של כ-10 סמנים. בחישוב אומדנים גנטיים של פרים ופרות יש חשיבות רבה למידע אמין של זהות ההורים. לפיכך, בדיקה מולקולארית של אבהות זיהתה טעויות בדיווח של אבהות, איתרה מזריעים בעלי רמת דיווח אבהות נמוכה וזיהתה בדיעבד את האב במקרים רבים. בנוסף, בדיקת הורות שימשה



איור 2: השוואה בין אחוז שומן של שתי קבוצות בנות של הפר גנדי השונות באלל של הסמן הגנטי CSSM66 בכרומוזום מספר 14.



איור 3: זוג תאומות זהות.

אחוז השימוש בפרים עם אומדן גנומי ללא בנות מגיע ל-50% בהולנד, 67% בצרפת, 70% בגרמניה ו-95% בסקנדינביה

באלל של הסמן הגנטי שירשו מהאב, m לעומת M, הרי צפוי שיהיה הבדל בייצור החלב כתוצאה של השפעת אלל A לעומת a. בשנות ה-90 יצאנו לדגום דם ושיער של בנות הפרים גיוס, פרחח, מפי ואחרים מרב העדרים הקיבוציים. אנליזה של כ-100 סמנים גנטיים המפוזרים בגנום הראתה אתרים מתפצלים לתכונות ייצור חלב ומרכיביו בכרומוזומים 6, 7, 14 ועוד. דוגמא לאיתור גן כמותי מתפצל באמצעות מבחן תאחיזה לסמן גנטי בבנות הפר גנדי ניתן לראות באיור מספר 2. הפר גנדי מעביר למחצית מבנותיו את האלל 185 (מסומן בכחול) של הסמן הגנטי, ולמחצית האחרת את האלל 189 (מסומן באדום). השוואה בין שתי קבוצות הבנות הנבדלות באלל של הסמן הגנטי שהתקבל מהאב הראתה יתרון מובהק





הנושאים עשרות ומאות אלפי סמנים מסוג SNP הניתנים לקביעת גנוטיפ יעילה לפרט. הבשלה של התשתית המדעית והטכנולוגית מאפשרת סריקת גנום יעילה לכל פרט באמצעות שבב הנושא כ-54 אלף סמנים בעלות של כ-100 דולר. שבבים הנושאים אלפי סמנים בודדים עולים עשרות דולר בלבד. נדרש איסוף דוגמת שיער מפרים ופרות לצורך קביעת גנוטיפ ואנליזה של הסמנים.



איור 4: הצגה סכמאטית של סמנים בבקר מסוג SNP (משמאל), וביטוי של סמן הטרוזיגוט בקביעת רצף (מימין).

אימות זיהוי אבהות על ידי סמני SNP

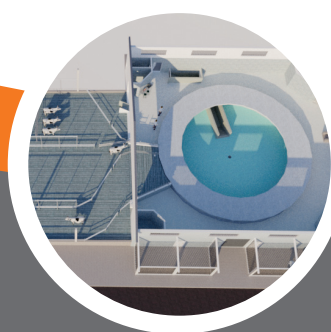
עד כה נבדקו על ידי השבב הגנטי כ-3500 פרים ופרות בארץ. בארה"ב נקבעו גנוטיפים עבור יותר ממיליון פרים ופרות. המידע הגנוטיפי המפורט ממערך הסמנים מסוג SNP שבשבב מאפשר אישור או דחייה ודאית של אבהות; לסמן גנטי מסוג פולימורפיזם בנוקלאוטיד יחיד - SNP, שני אללים

כלי יעיל בהוכחת גניבות בקר, באיתור פר בעדר בקר לבשר האחראי להמלטות קשות, באיתור האם בריבוי המלטות באותו מועד ברפת ובזיהוי פרות אילוניות ועוד. לדוגמא, במחקר שמטרתו הייתה לאתר תאומות זהות ליצירת תבנית ניסוי מיטבית לבחינת השפעות סביבתיות כטיפול הזנה, או גנטיות לבחינת המיקרוביום בכרס לדוגמא, נבדקו 17 זוגות תאומות לסמנים גנטיים. רק שתי פרות תאומות נמצאו זהות בגנוטיפ של כל 10 הסמנים הגנטיים (כ-5%). לפיכך, נקבעו כתאומות זהות שמקורן מביצית אחת. באיור מספר 3 מוצג זוג הפרות התאומות זהות מקיבוץ זיקים. צידה הימני של פרה 6788 מוצג מעל צידה השמאלי של תאומתה 6789.

איתור סמנים גנטיים מסוג פולימורפיזם ברמת הנוקלאוטיד הבודד

ריצוף גנומי של בקר המציג את סדר הנוקלאוטידים (בסיסי דנ"א) מסוג AGCT הראה קיום פולימורפיזם ברמת הנוקלאוטיד הבודד (Single Nucleotide Polymorphism (SNP (איור 4 מימין). כאמור לכל פרט שני עותקים של האזור הגנומי הנמצאים על כרומוזומים הומולוגיים, ולכן אם הם מכילים נוקלאוטידים שונים (C ו-T לדוגמא) הוא ייקרא הטרוזיגוט. בריצוף דנ"א של פרט הטרוזיגוטי לסמן מסוג SNP (איור 4 מימין) ניתן להבחין בשני שיאים (פיקים) חופפים, בצבע כחול (C) ואדום (T), המציינים קיום נוקלאוטידים שונים באותה עמדה. בהתאם לכך התוכנה מסמנת בקו ולא באות את זהות הבסיס ברצף. נמצא שבממוצע בכל 100 בסיסי דנ"א ישנו פולימורפיזם. לפיכך, קיים מאגר זמין של מיליוני סמנים מסוג SNP בגנום בקר. לכל סמן כזה רק שני אללים בניגוד למגוון אללים בסמן המיקרוסטיליטי. בהצגה סכמאטית באיור 4 מצד שמאל ניתן לראות קיום סמנים הטרוזיגוטים לכל פרה המוקפים במלבן. פותחו שבבי דנ"א

חל פסח שמח!



AgroPlan אגרו
מתכננים את הרפת בשבילך
התמחות בתכנון מבנים חקלאיים

תודה לכל הרפתות שבחרו בנו לתכנון מכון החליבה הרוטארי:

- רפת קבוצת כנרת
- רפת גליל מערבי ברגבה
- רפת צבאים במולדת
- רפת שער העמקים
- רפת רן ברביבים
- רפת המפלים ביהונתן

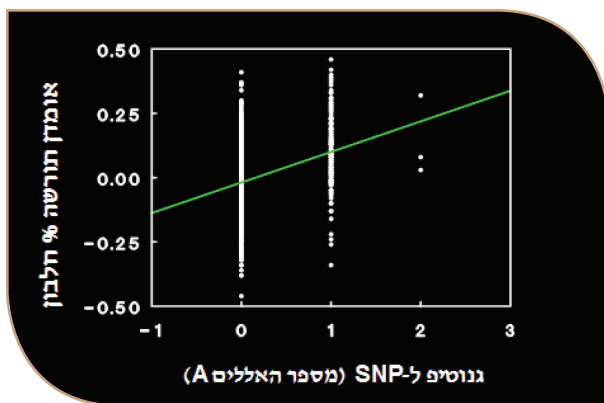
כתובת המשרד: מושב תימורים כתובת למשלוח דואר: באר טוביה 8381500
טל. 08-8602272 www.agroplan-il.com Agropplan.ltd

אגרופלן בע"מ
מהנדס אבנר הורביץ





ידי איתור השפעת סמן SNP בודד בכרומוזום 6 על אומדן הורשה לאחוז חלבון של פרים בישראל. ככל שגנוטיפ הפריים ב-SNP מכיל יותר אללים מסוג A (מקסימום שני אללים) כך אומדני ההורשה גבוהים יותר לתכונה. קו הרגרסיה הלינארית של אומדן תורשה ל-% חלבון כפונקציה של מספר אללים מסוג A של הפר באתר הגנומי מסומן בירוק. מקדם הרגרסיה הוא 0.22% אומדן תורשה של אחוז חלבון. מכאן שנוסחת החיזוי תכלול את ההשפעה הגנומית של ה-SNP הזה. השונות באחוז תורשה של כל הפריים מכילי אלל A יחיד כדוגמא (נקודה 1 בציר ה-X), מיוצגת על ידי פיזור הנקודות האנכי משני צדי קו הרגרסיה. פיזור דומה מוצג לכל הפריים ללא אלל A (נקודה 0 בציר ה-X) ומבטא השפעת גנים נוספים על אחוז חלבון המתפצלים באותם הפריים. גנים אלו יאותרו בצורה דומה על ידי סמנים נוספים האחוזים אליהם בגנום, וההשפעות (מקדמי רגרסיה) ייכללו גם הם בנוסחת החיזוי לבחירת פריים ופרות מצטיינים גנומית לאחוז חלבון (שלב ב').

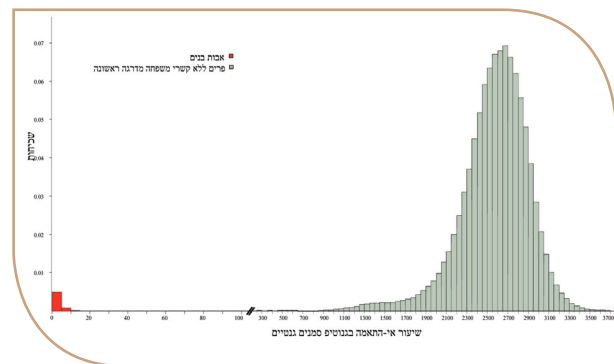


איור 6: השפעת SNP בודד האחוז לנג ABCG2 על אומדן הורשה ל-% חלבון של פריים ישראלים.

סלקציה גנומית בעולם

באוכלוסיות בקר מובילות בארה"ב, קנדה, אוסטרליה והולנד נקבעים אומדני הורשה גנומיים לפריים ופרות ומתבצעת סלקציה על פי אומדנים אלו. קיימת התארגנות של תאגיד (קונסורציום) צפון אמריקה הכולל כ-35,000 פריים מארה"ב, קנדה, איטליה ואנגליה, ותאגיד אירופאי הכולל 30,000 פריים מ-9 מדינות (גרמניה, צרפת, הולנד, בלגיה, דנמרק, פינלנד, שבדיה, ספרד ופולין). בנוסף, אוסטרליה וניו-זילנד מיישמות סלקציה גנומית באופן עצמאי. היתרון בתאגידים אלו הוא חישוב נוסחת חיזוי גנומי על בסיס מוצק של מידע גנומי ואומדני הורשה על בסיס בנות של עשרות אלפי פריים. אחוז השימוש בפריים עם אומדן גנומי ללא בנות מגיע ל 50% בהולנד, 67% בצרפת, 70% בגרמניה ו-95% בסקנדינביה. מבחני הפריים הרשמיים של האגודות להזרעה בארה"ב מפורסמים עם אומדנים גנומיים לסחר בינלאומי בזירמה (Interbull) מחשב מבחנים גנטיים Multiple Across Country Evaluation MACE וגנומים (gMACE) לפריים מכל הארצות המשתתפות. היתרונות העיקריים בשיטת החישוב הם שימוש בכל הקשרים הגנטיים בין הפריים, וחשוב לכל הפריים בכל ארץ משתתפת בנפרד כדי לתת מענה לקיום אינטראקציה בין גנוטיפ וסביבה. התקבלו מתאמים גבוהים (מעל 0.92) בין שני סוגי המבחנים, הגנטיים והגנומיים. לפיכך, בכל ארץ ניתן לשקול רכישת זרמת פריים על פי gMACE לפי האינדקס טיפוח שלה.

בלבד. לדוגמא, כאשר גנוטיפ הפר AA ושל האב המשוער AG מתקבלת התאמה בהורשה של כרומוזום אבהי נושא אלל A לצאצא. לעומת זאת, כאשר גנוטיפ הפר AA ושל האב המשוער GG מתקבלת אי-התאמה בהורשה של כרומוזום אבהי לצאצא שמקורה בטעות בקביעת הגנוטיפ של אחד מהם או זהות שגויה של האב. שיעור גבוה של אי-התאמה בסמנים השונים יצביע על זהות שגויה של האב המשוער. ע"י השוואה של הגנוטיפים בין כל הצמדים האפשריים של הפריים ניתן לזהות אבות ולהשוות אותם לאלו המדווחים בספר-העדר. עבור 681 זוגות נמצאה התאמה בין האב המדווח לבין האב המזוהה ע"י התאמה בסמנים (96% מהאבות המדווחים). לא נמצא "אב חליפי" המתאים ברב הסמנים לאף אחד מהפריים. בכל המקרים שהאב המדווח אומת ע"י בדיקת הסמנים, מספר המקרים של אי-התאמה בגנוטיפ בין אב לבנו נע בין 0 ל-14 (0.006%). באיור 5 ניתן לראות בצבע אדום את מספר המקרים הנמוך של אי-התאמה בין זוגות אבות ובנים, הנובע מטעות בקביעת הגנוטיפ. לעומת זאת, מספר המקרים של אי-התאמה בגנוטיפ שנמצא בין פרטים אקראיים, אשר אינם הורה וצאצא, נע בין 187 (0.88%) ועד לאלפים (מופיע בירוק). ההפרש הניכר בשיעור האי-התאמה בגנוטיפ בין הורה לצאצא (באדום) מחד, לבין פרטים אקראיים ללא קרבת משפחה מדרגה ראשונה (בירוק) מאידך, מאפשר אימות ואיתור אבהות בעוצמה סטטיסטית מרבית.



איור 5: התפלגות שיעור אי-התאמה בגנוטיפ של סמנים בין צמדי אבות ובנים (באדום) וצמדי פריים אקראיים ללא קשרי משפחה מדרגה ראשונה (בירוק).

סלקציה גנומית

מחקרים רבים הראו שניתן להחיש את ההתקדמות הגנטית בתכונות כלכליות באמצעות השבחה המבוססת על אנליזה של סמני דנ"א. ללא סמנים, אומדן הורשה (א"ה) של עגל צעיר מחושב כממוצע א"ה של ההורים עם ערך הישנות של 0.3-0.9 לא"ה של פר שעבר מבחן צאצאים. ע"י מידע של סמנים גנטיים ניתן להעלות את ההישנות של א"ה של פריים צעירים ל-0.75. בחירת פריים צעירים לשימוש רחב לפי סמנים גנטיים וקשרי משפחה, מקצרת את אורך הדור הממוצע בין אב לבת משבע לארבע שנים וצפויה להכפיל את ההתקדמות הגנטית השנתית.

יישום סלקציה גנומית

יישום סלקציה גנומית מבוצע בשני שלבים: א. שימוש באוכלוסיה המכילה מידע גנומי ונתונים פנוטיפים של ייצור ופוריות על מנת לחשב את נוסחת החיזוי של אומדני הורשה על בסיס נתונים גנומיים (Training set), ו-ב. בחירה של פריים ופרות על בסיס מידע גנומי בלבד באמצעות נוסחת החיזוי (Validation set). באיור מספר 6 ניתן להמחיש את שלב א' על





איור 7: מתווה הטיפוח מבוסס סלקציה גנומית בישראל.

סלקציה גנומית בישראל

בישראל מערך הטיפוח הישראלי ב-60 השנים האחרונות היה מבוסס על תכנית המתנה ובחינת פרים לפי מבחן צאצאים והושגה התקדמות גנטית שנתית באינדקס הטיפוח של 1% בממוצע. הטיפוח בישראל הוסב לסלקציה גנומית של פרים צעירים ומתווה הטיפוח מוצג באיור 7. בגיל צעיר של כ-6 חודשים נאספות דוגמאות של כ-300 עגלים, צאצאים לפרות עתודות ופרים מצטיינים מהארץ והעולם, ונשלחות לקביעת גנוטיפ לכ-54 אלף סמנים גנטיים. כתוצר לוואי מתקבל אימות הורות של העגלים ובמקרה של זיהוי שגוי מאותרים ההורים. בגלל המספר המצומצם של פרים בעלי מידע גנומי ומבחינת צאצאים, ישראל לא יכולה להצטרף לתאגידים הבינלאומיים (נדרש מספר סף של 4000 פרים). לפיכך, נערך הסכם בין המ"ב, שיאון ו-Holland Genetics לעיבוד משותף של הנתונים מישראל והולנד וחישוב אומדנים גנומיים לפרים צעירים ישראלים. על בסיס אומדנים אלה נבחרים 5 עד 6 עגלים הנכנסים להזרעה ברמה ארצית. כיום יש 38 פרים עם בנות עם מעל 250 ימי חליבה והישגות מעל 0.8, ואומדן הורשה גנומי. עם השלמת התחלובה ניתן יהיה לחשב את המתאם בין אומדני הורשה גנטיים וגנומיים לבחינת היעילות בפועל של סלקציה גנומית בישראל.

מסקנות

1. ב-60 שנות ההפעלה של תכנית ההמתנה של פרים למבחן גנטי של בנותיהם (מבחן צאצאים) הושגה התקדמות גנטית שנתית באינדקס הטיפוח של 1% בממוצע.
2. עד כה נמצאה המוטציה (תשנית) הקובעת רק בשני גנים בעלי השפעה כמותית על תכונות יבול, בעוד שנמצאו

- אזורים גנומיים רבים בעלי השפעה.
3. הממצאים שלנו ושל הספרות מאשרים את תקפות המודל האינפיטיסימלי של פיישר (1930) שקיימים מספר רב של גנים המשפיעים על תכונות כמותיות והשפעתם קטנה ומצטברת.
 4. ניתן לאמת אבהות על פי רישומי ספר-העדר בעזרת מערך 54 אלף הסמנים, ולאתר אבות ואימהות של פרים עם זיהוי הורי שגוי בפעולת מחשב בלבד וללא עלות נוספת.
 5. שיעור הדיוק הגבוה של קביעת גנוטיפ לסמנים גנטיים מצביע על תשתית אמינה לסלקציה גנומית.
 6. סלקציה גנומית עשויה להגדיל את ההתקדמות הגנטית עד פי 2 גם בלי לאתר את הגנים עצמם "Forget about the damn genes" Chris Van Tassell, 2014.
 7. קיים יתרון לסלקציה גנומית באוכלוסיות גדולות. לפיכך, השימוש בפרים מצטיינים גנומיים מחו"ל להזרעת עתודות בישראל צפוי לקדם גנטית את האוכלוסייה המקומית.
 8. יש מקום לאופטימיות לגבי המשכיות ההתקדמות הגנטית בעידן הגנומי "Breeder are simply giving evolution a push using the technology available" William G. Hill, 2016.
 9. ניתן ליישם סלקציה גנומית בחיות משק נוספות כמו בקר לבשר, סוסים, צאן ודגים על בסיס התארגנות של נציגי מגדלים לשיתוף מידע עם אוכלוסיות מחו"ל, קיום שבבים של סמנים גנטיים והשקעה באנליזה גנומית של פרטים.

המחברים מודים להנהלת ענף בקר, מועצת החלב וקרן קמ"ח (מס' 4794-15R) על תמיכתם במחקר, ולסטודנטים על תרומתם לביצוע המחקר. רשימת הפרסומים נמצאת אצל המחברים. ▲

